

学位授与番号	甲第 1668 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 22 日
氏 名	白 景 明
学位論文題目	In vitro detection of <i>mdr1</i> mRNA in murine leukemia cells with ¹¹¹ In-labeled oligonucleotide (¹¹¹ In 標識オリゴヌクレオチドによるマウス白血病細胞内 <i>mdr1</i> の試験管内検出)
論文審査委員	主 査 教 授 松 井 修 副 査 教 授 中 尾 眞 二 教 授 森 厚 文

内容の要旨及び審査の結果の要旨

癌組織性状診断は、その効果的治療に直結する問題である。現状では、生検材料を用いて関連遺伝子シーケンスの検出が試みられているが、侵襲的かつサンプリングエラーによる誤診が発生し得る問題点を有している。これに対し、遺伝子シーケンスに特異的な放射能標識アンチセンスオリゴヌクレオチド(ODN)を用いた画像化が可能であれば、低侵襲的で高精度の診断ができる。この診断法の確立には、高比放射能標識法の樹立と効果的な細胞内デリバリー法の開発が必須である。本研究は、癌細胞の薬剤耐性に深く関わる多剤耐性遺伝子 *mdr1* の mRNA に対するアンチセンス ODN の放射性元素 ¹¹¹In 標識を試み、多剤耐性細胞（マウス白血病細胞株 P388/S の耐性誘導株 P388/R）へのターゲッティングの可能性を検討したものである。結果は以下のように要約される。

1. *mdr1* 産物である P 糖蛋白(P-gp)の基質であることが知られている放射性医薬品 ^{99m}Tc-sestamibi の P388/R 細胞内摂取は、P388/S と比べ有意に低値であり、耐性形質の発現が確認された。
2. mRNA を RT-PCR 法で増幅し解析した結果、P388/R 細胞の *mdr1* 高度発現が確認できた。
3. *mdr1* mRNA に相補的な 15-mer phosphorothioate 化 ODN の 5' 末端リン酸基に結合させたアミノ基を介して二官能基性キレート剤を結合し、¹¹¹In 標識条件の最適化を行うことにより、1634 MBq/nmol の高比放射能標識体が得られた。
4. 標識 ODN の細胞内摂取動態の詳細を観察した結果、ODN の水溶性と陰性帯電が原因で、標識体そのものの形態での特異的細胞内取り込みは得られなかった。しかし、ODN を正電荷あるいは中性電荷を持つ合成脂質キャリアに抱合することにより、アンチセンス ODN の P388/R 細胞への選択的高度集積とその細胞内保持が確認された。

以上より、γ線による生体内腫瘍組織画像化が可能な高比放射能 ODN の ¹¹¹In 標識が達成できたこと、標識体のキャリア抱合化により ¹¹¹In 標識アンチセンス ODN の効果的細胞内デリバリーが可能であることが示された。これらの成果は、今後の放射能標識アンチセンス ODN による癌組織性状診断法の開発に結びつくものであり、癌治療の進歩に大きく寄与しうる点において、学位に値する価値ある研究と評価された。